FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1962 N° 17

TITRE DE LA THÈSE

A PROPOS DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE DU SANG APPLICATIONS PRATIQUES EVENTUELLES AUX PROBLEMES DE LA TRANSFUSION

(Travail réalisé au Centre Départemental de Transfusion Sanguine de Grenoble)

THÈSE

présentée
à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le 2 Février 1962
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
par

Michel NEY
Externe des Hôpitaux de Grenoble
né le 5 Novembre 1930
à TULLINS (Isère)

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41550013_0030

FACULTÉ MIXTE DE MÉDECINE
ET DE PHARMACIE DE LYON

Année 1962 N° 17

R. UNIV.
BIBLIOTHEEK
LEIDEN

TITRE DE LA THÈSE

A PROPOS DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE DU SANG APPLICATIONS PRATIQUES EVENTUELLES AUX PROBLEMES DE LA TRANSFUSION

(Travail réalisé au Centre Départemental de Transfusion Sanguine de Grenoble)

THÈSE

présentée
à la Faculté Mixte de Médecine et de Pharmacie de Lyon
et soutenue publiquement le 2 Février 1962
pour obtenir le grade de Docteur en Médecine
par

Michel NEY
Externe des Hôpitaux de Grenoble
né le 5 Novembre 1930
à TULLINS (Isère)

Faculté Mixte de Médecine
& de Pharmacie de LYON

PERSONNEL de la FACULTE

M.J. LEPINE : Doyen Honoraire
Membre de l'Institut

M.H. HERMANN : Doyen
Correspondant de l'Institut

MMrs: M. LEVRAT Assesseur
L. REVOL, Assesseur

Professeurs Honoraires

MM. COLLET, GUIART, PATEL, LEPINE, TRILLAT, MOURIQUAND, MAZEL, GARIN, GATE, MARTIN, GABRIELLE, SANTY.

Professeurs

MM. HERMANN	Physiologie
CIBERT	Clinique Urologique
PONTHUS (détaché à Beyrouth)	Physique biologique
DECHAUME	Clinique Neuro-Psychiatrique et Hygiène Mentale
ROCHET	Thérapeutique Chirurgicale et Chirurgie Opératoire
CHAMBON	Chimie Organique et Toxicologie
WERTHEIMER	Clinique Chirurgicale B
PAUPERT-RAVAULT	Clinique Médicale B
FROMENT	Clinique et Prophylaxie Cardio-Vasculaire
CROIZAT	Clinique Médicale C
ENSELME	Clinique Biologique et Médicale
MALLET-GUY	Clinique Chirurgicale A
GUILLEMINET	Clinique de Chirurgie Orthopédique et de Chirurgie Infantile
REVOL	Pharmacie Galénique et Matière Médicale
POLLOSSON	Clinique Gynécologique
PIGEAUD	Clinique Obstétricale
BOURRET	Médecine du Travail
LEVRAT	Clinique Médicale A
SOHIER	Hygiène et Action Sanitaire Sociale
DUCLOS	Clinique Stomatologique
BERNHEIM	Clinique Médicale Infantile et Hygiène du Ier Âge
JOURDAN	Biologie Médicale et Pharmacodynamie
NETIEN	Botanique et Cryptogamie
BERTRAND	Clinique Chirurgicale C
BADINAND	Chimie Analytique Pharmaceutique
ROCHE	Médecine Légale et Déontologie
COUDERT	Parasitologie et Pathologie Exotique
MOUNIER-KUHN	Clinique d'Oto-Rhino-Laryngologie & d'Audio-Phonologie
PAUFIQUE	Clinique d'Ophtalmologique
THIERS	Clinique de Dermatologie, syphiligraphie et Allergologie
BRUN	Clinique de Pneumo-Phtisiologie
CREYSSEL	Clinique Traumatologique des Membres
DARGENT	Cancérologie
GUICHARD	Anatomie Pathologique
Girard Paul	Pathologie Générale et Expérimentale
LATARJET	Anatomie

MM.	PEYCELON	Pathologie Chirurgicale
	GIRARD Marcel	Thérapeutique
	VACHON	Pathologie Médicale
	GALY	Physio-pathologie des Voies Respiratoires
	KEHL	Histologie et Embryologie
	PAPILLON	Radiologie
	JEUNE	Clinique des Maladies Infectieuses
	GONIN	Hydrologie thérapeutique, Climatologie et Ecologie Sociale
	MONNET	Bactériologie

Professeurs à Titre Personnel

BERGER	Physique Nucléaire appliquée à la Médecine
DORCHE	Technologie Pharmaceutique

Professeurs sans Chaire

BANSSILLON	Obstétrique	CHATONNET	Physiologie
ROMAN	Parasitologie	CIER André	Pharmacie Chimique & Pharmacologie
BERTOYE	Bactériologie		
CIER J. François	Physiologie	PERROT	Chimie organique & toxicologie.

Maitres de Conférences Agreges

Médecine

FEROLDI	Anatomie Pathologique
CREYSSEL Roger	Chimie Biologique et Médicale
DUROUX Emile	Anatomie
BRETTE René	Thérapeutique
DUMONT Louis	Histologie
THIVOLLET Jean	Hygiène
GARIN Jean Paul	Parasitologie
MORET Robert	Physique
BOUCHET Alain	Anatomie
TOMMASI Michel	Anatomie Pathologique
RIFFAT Georges	Hygiène
JOUVET Michel	Pathologie Expérimentale
FAVRE-GILLY Jean	Hématologie

Pharmacie

ODDOUX Lucien	Botanique et Cryptogamie
MALLEIN René	Chimie Analytique
GRAS Jean	Chimie Biologique
PEYRIN Jean-Ollivier	Physique

Agrégés en Exercice

MM.	MATHIEU Jacques	Obstétrique
	MARION Joseph	Orthopédie
	GUINET Paul	Médecine Générale
	PONT Maurice	Médecine Générale

MM. VIGNON Georges	Médecine Générale
REVOL Louis	Médecine Générale
PLAUCHU Marcel	Médecine Générale
TRAEGER Jules	Médecine Générale
MARION Pierre	Chirurgie Générale
MICHAUD Pierre	Chirurgie Générale
JAUBERT de BEAUJEU Michel	Chirurgie Générale
SAUTOT Jean	Chirurgie Générale
GUILLEMIN Georges	Chirurgie Générale
BURTHIAULT René	Obstétrique
GIGNOUX Marcel	Oto-Rhino-Laryngologie
FRANCOIS René	Pédiatrie
FREIDEL Charles	Stomatologie
DEVIC Michel	Médecine Générale
DESPIERRES Charles	Médecine Générale
de MOURGUES Georges	Chirurgie Générale
FRANCILLON Jacques	Chirurgie Générale
SAUBIER Eugène	Chirurgie Générale
COLOMB Daniel	Dermatologie
COLIN Marcel	Médecine Légale
TOLOT François	Médecine du travail
GUYOTAT Jean	Neuro-Psychiatrie
SCHOTT Bernanrd	Neuro-Psychiatrie
DUMONT Martial	Obstétrique
BONAMOUR Georges	Ophtalmologie
DURAND Louis	Urologie
GARDE Alexandre	Médecine Générale
PERRIN André	Médecine Générale
LARBRE François	Médecine Générale
MORNEX René	Médecine Générale
NORMAND Jean	Médecine Générale
MARET Gilbert	Chirurgie Générale
DESCOTES Jacques	Chirurgie Générale
CHASSARD Jean-Louis	Electro-Radiologie
ALLEGRE Georges	Neuro-Chirurgie
HUGONNIER René	Ophtalmologie
FAYSSE Robert	Orthopédie
GAILLARD Jean	Oto-Rhino-Laryngologie
KALB Jean-Claude	Pneumo-Phtisiologie

Examinateurs de la Thèse :

Président .... M. CROIZAT

Assesseurs ... M. MONNET

M. REVOL

M. SEIGNEURIN

A mes Parents

A ma Femme

A mes Enfants

A Grand-Mère

A la mémoire de ma Belle-Soeur

A mes Beaux-Parents

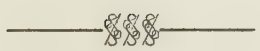
A ma Tante

A mon Frère et à ma Nièce

A ma Belle-Soeur

A toute ma famille

A tous mes Amis.



A Monsieur le Professeur CROIZAT

Professeur de Clinique Médicale

Directeur de l' Institut Pasteur de LYON.

Nous le remercions de l'accueil qu'il nous a réservé et de l'attention qu'il a bien voulue prêter à notre travail.

Il nous a fait l'honneur d'accepter la présidence de notre Jury de Thèse.

Qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre respectueuse gratitude.

A Monsieur le Professeur MONNET

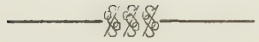
Professeur de Bactériologie

Médecin des Hôpitaux.

Nous avons eu l'avantage de bénéficier de ses qualités didactiques à l'occasion des conférences de préparation au Certificat de Bactériologie.

La qualité, la clarté de son enseignement jointes à un continuel souci d'objectivité nous ont séduit, ainsi que cette portée humaine qu'il confère aux exposés techniques par les vertus d'une vaste expérience à la fois clinique et scientifique.

Il a bien voulu accepter d'être de notre Jury, qu'il veuille bien trouver ici l'expression de notre reconnaissance.



A Monsieur le Professeur REVOL

Médecin des Hôpitaux

Directeur du Centre Régional de Transfusion Sanguine.

Nous savons l'intérêt qu'il porte à tous les problèmes relatifs à la transfusion sanguine pour laquelle il a tant fait.

Nous avons été profondément touché par l'amabilité et la simplicité de son accueil. Nous l'en remercions ainsi que de l'honneur qu 'il nous a fait de nous juger.

A Monsieur le Professeur SEIGNEURIN

Professeur de Bactériologie et d'Hygiène

Directeur du Centre Départemental de Transfusion Sanguine de GRENOBLE

Médecin des Hôpitaux.

Il y a 3 ans, en nous ouvrant les portes de cet établissement modèle que constitue le Centre Départemental de Transfusion Sanguine tel qu'il l'a conçu et réalisé, puis en nous accueillant aux Laboratoires de l'Hôpital et de l'Ecole, il a grandement contribué à nous donner le goût des disciplines biologiques.

Il nous a fait l'honneur de nous confier ce travail, auquel nous savions quel intérêt il portait, et nous a guidé et conseillé avec délicatesse et gentillesse au cours de sa réalisation au Laboratoire du Centre de Transfusion.

Nous voudrions que cette Thèse soit un témoignage de notre sincère reconnaissance et nous l'assurons de nos sentiments respectueux et dévoués.

A Monsieur le Docteur MAGNIN

Chef de Travaux Pratiques de Bactériologie

Chef du Laboratoire au

Centre Départemental de Transfusion Sanguine.

Par sa connaissance de la Bactériologie et de toutes les questions touchant à la conservation du sang, par son aisance à résoudre les problèmes technique, il a grandement contribué à nous aider à réaliser cette Thèse qui est aussi son oeuvre.

Nous l'en remercions ainsi que des patients et bienveillants conseils qu'il veut bien nous prodiguer aux Laboratoires du Centre de Transfusion et de l'Ecole de Médecine, et nous l'assurons de toute notre amitié.

A tout le Personnel

du CENTRE DEPARTEMENTAL de TRANSFUSION SANGUINE de GRENOBLE

et du LABORATOIRE de BACTERIOLOGIE de l'ECOLE DE MEDECINE.

A nos Maitres de l' EXTERNAT des Hôpitaux de GRENOBLE

Monsieur le Professeur CABANAC.

Monsieur le Docteur MAITREROBERT.

Monsieur le Professeur GRANMAISON.

Monsieur le Professeur ROGET.

Monsieur le Professeur MAZARE.

Monsieur le Professeur SEIGNEURIN.

A V A N T - P R O P O S

§§§

Question d'actualité, en raison de la faveur dont bénéficie à juste titre le sang conservé dans la Thérapeutique moderne, le Pouvoir Antibiotique du sang, s'il est généralement admis dans son principe reste fort discuté dans ses modalités d'action.

L'accent mis, ces dernières années sur le rôle du sang infecté dans certains accidents transfusionnels a encore accru l'intérêt que l'on portait à cette notion de pouvoir antibactérien et a suscité à ce sujet des opinions fort divergeantes.

En réalité, il semble que beaucoup de ces avis différents ou contradictoires ne le sont qu'en apparence car ils n'impliquent pas des conditions comparables.

Le Problème de l'importance de la souillure constitue l'une de ces questions-clefs.

En effet, par définition même, le Pouvoir Antibiotique du sang est obligatoirement limité. Il ne peut qu'être à la mesure des contaminations éventuelles auxquelles il est exposé à faire face physiologiquement dans l'organisme. Et encore là, ne constitue-t-il qu'un des éléments du "Système de Défense". A plus forte raison ne peut-on lui demander "in vitro" de détruire des souillures massives.

Cependant, tel qu'il est, considéré dans le cadre de ses possibilités, ce Pouvoir Antibiotique n'en est pas moins infiniment précieux. L'ensemble des précautions prises lors de la manipulation et de la préparation des flacons de sang

élimine les causes de souillure massive ; mais une souillure minime est encore possible. Elle sera sans conséquence, parce que dans les limites de l'efficacité du Pouvoir Antibiotique du sang (les germes seront détruits ou leur croissance inhibée). Son rôle apparaît donc comme essentiel, il est le véritable garant des aptitudes d'un sang à la conservation.

Dans ce travail, nous n'avons évidemment pas la prétention d'avoir épuisé le sujet. En ce qui concerne le spectre d'action notamment, nous nous sommes bornés à l'étude de la sensibilité vis-à-vis d'un seul germe-test. Par ailleurs la conception pratique de notre étude implique certaines conditions : la limitation de l'importance de l'inoculum et de la durée d'incubation. Tous ces problèmes non abordés ici sont actuellement l'objet des travaux que nous poursuivons au Centre de Transfusion Sanguine de Grenoble.

— ❀ —

Avant d'aborder notre sujet principal, dans un premier chapitre considéré comme une introduction, nous faisons état des contrôles bactériologiques que nous avons effectués au C.T.S.G. Dans ce domaine des études nombreuses et très précises (notamment en ce qui concerne l'identification du germe) ont été publiées. Notre objet n'est donc pas d'exposer la technique et les résultats d'une méthode, qui d'ailleurs n'est pas originale, mais la mise en évidence par des examens systématiques de la Notion de Pouvoir Antibiotique du Sang.

❀❀❀

LA CONTAMINATION BACTERIENNE
ET LE CONTROLE BACTERIOLOGIQUE DU SANG CONSERVE

Ces dernières années, nombre de publications (35- 14- 17- 34- 4- 27- 51-31- 44) ont particulièrement attiré l'attention sur le problème de la contamination bactérienne.

REISSMANN (42), puis BORDEN et HALL (12),MOLLISSON (37) publient des observations d'accidents dus à des transfusions de sang contaminé. M.PITTMAN (39) fait une étude bactériologique poussée de sangs ayant entraîné des réactions pathologiques. Citons encore MATHES (36), ENTERGART (22), STEVENS (46).

En 1957, dans sa thèse sur "Les accidents dus à l'injection de sang infecté", Madame LARTIGUE a pu réunir 73 observations dont 48 cas mortels.(A une séance de la Société Nationale de Transfusion Sanguine, 26 cas certains furent cités). A ce chiffre doivent s'ajouter toutes les observations non publiées et tous les accidents qui ne furent pas rapportés à leur origine réelle.

Ainsi, alors que par une organisation méthodique des contrôles et une attention toujours en éveil, les possibilités d'erreur de groupage étaient réduites (l'incompatibilité séroglobulaire symbolisa longtemps presque à elle seule l'ensemble des risques encourus par les receveurs) cet autre danger se précisait et venait prendre rang dans le cadre de la pathologie transfusionnelle.

Il est maintenant bien admis que parmi les accidents thérapeutiques dus à l'emploi du sang et de ses dérivés, à

côté des accidents hémolytiques, allergiques, des accidents de surcharge, figure une rubrique des accidents (49 -28) infectieux qui n'existait pas dans les traités antérieurs à la dernière guerre.

Une meilleure connaissance de ces problèmes a conduit à renforcer encore l'ensemble des mesures visant à la stérilité des flacons de sang conservé, précautions qui furent toujours l'un des soucis majeurs des Centres de Transfusion.

Ainsi à chaque étape, à chaque stade du cycle du sang, dans son périple de donneur à receveur, toute une gamme de précautions, chacune étant essentielle est appliquée : la sélection des donneurs, le prélèvement, le choix du matériel etsa stérilisation, la réfrigération, les conditions de transfusion.

Les résultats de cette somme d'efforts sont très valables puisque chaque jour des milliers de transfusions de sang ou de dérivés du sang sont effectuées sans incident.

La sanction de cette prévention des accidents infectieux est bien sûr le contrôle bactériologique des flacons de sang conservé. Aucune législation ne régit encore les techniques microbiologiques à mettre en oeuvre pour le contrôle de la stérilité des produits d'origine humaine. L'O.M.S. se borne à offrir un certain nombre de recommandations (8).

Nous en avons tenu compte dans les techniques que nous employons ainsi que des méthodes préconisées à l'occasion du "Colloque sur la contamination bactérienne du sang et des produits biologiques d'origine sanguine" lors de la séance de la Société Nationale de Transfusion Sanguine, de Novembre 1959.

MATERIEL ET TECHNIQUE

- Choix des échantillons : autant par crainte d'être à l'origine de souillures par des prélèvements sur des sangs destinés à l'utilisation que pour économiser un liquide précieux, nous avons manipulé :

  d'une part sur des flacons arrivés à leur date de péremption ;

  d'autre part sur les flacons suspects retirés du circuit de distribution : coloration anormale, flacon hémolysé, flacon éliminé par le Laboratoire (taux de billirubine trop élevé par exemple), flacon mal fermé, ou encore sang prélevé pour des raisons psychologiques mais impropres à la transfusion.

- Durée d'incubation : 8 jours, avec une lecture des résultats après 24 heures et une autre à l'issue de la conservation.

- Température d'incubation : à l'étuve à 37°
  à la température du Laboratoire soit 20°.

- Volume ensemencé : 5 ml.

- Milieux utilisés : pour aérobies : gélose M C 55 en boîte de Pétri de 150 mm de diamètre ;

  pour anaérobies:milieu liquide au thioglycolate de Sodium en tube de 20 x 200 mm.

  pour moisissures: milieu de SABOURAUD en boîte de Pétri de 100 mm.

Ainsi pour chaque échantillon, 5 mises en culture sont effectuées :

2 sur milieu M C 55 : à 37° et à 20°
2 sur milieu au thioglycolate: à 37° et à 20°
1 sur milieu Sabouraud : à 20°.

RESULTATS et DISCUSSION (Tableaux p.7- 8- 9- 10- 11)

Sur 78 flacons examinés, nous avons eu 15 cultures positives : 2 par des moisissures , 13 par des germes dont 8 sont des bacilles gram négatifs, ce dont nous tiendrons compte pour le choix d'un germe test lors des expérimentations sur le pouvoir antibiotique du sang (par défaut d'organisation matérielle nous n'avons pu alors pousser plus loin l'identification des germes). Dans tous les cas (sauf 2: un flacon ayant entraîné un shock, l'autre manifestement suspect) les souillures constatées sont minimes.

Les 78 flacons comprennent 34 flacons dont le bouchon avait été piqué (P) pour prélever de petite quantité de sang ou du plasma. Et nous avons :

- 11 cultures positives pour 34 flacons piqués ;
- 4 cultures positives pour 44 flacons non piqués.

Donc, cette pratique semble être une cause importante de contamination.

La fréquence des souillures que nous avons constatée est bien supérieure aux chiffres habituellement cités :

- SPOONER * 5 %
- BRAUDE* 2,24 à 6 %
- BREILLAUD* 3,13 %
- RABY* 5,84 %.

Mais nos résultats sont comparables à ceux acquis par des techniques identiques et publiées par M.MASSE, BENTEGEAT et Collaborateurs (32) qui sur une série de 73 flacons périmés ont mis en évidence 10 cultures positives. Or, abstraction faite de 4 flacons suspects qui se révèlent souillés, nous avons 11 cultures positives pour 74 flacons périmés qui représentent environ 14% de flacons souillés.

Numéro du flacon	Milieu pour Aerobies				Milieu pour Anaerobies				Moisissure et Levure	GERMES	
	24 h.		8 jours		24 h.		8 jours				
	20°	37°	20°	37°	20°	37°	20°	37°		Gram	Morphologie
60 11091 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11094 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 10979	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 10981	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11015 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11104 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11100	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11017 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11408 flacon suspect	0	16	0	CE	+	+	+	+	—	—	bacilles
60 11388	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11541	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11568 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11662 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11658 P flacon suspect	0	1	2	1	—	—	—	—	—	—	bacilles
60 11685 P	0	0	0	0	—	—	—	—	+		
60 11682	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11899 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 11926 P	0	0	0	0	—	—	—	—	+		
60 11928 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		

Numéro du flacon	Milieu pour Aerobies				Milieu pour Anaerobies				Moisissures et Levures	GERMES	
	24 h.		8 jours		24h.		8 jours			Gram.	Morphologie
	20°	37°	20°	37°	20°	37°	20°	37°			
60 12110 P	0	3	1	CE	0	0	+	+	—	+	cocci
60 12191	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 12364	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 12548	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 12888	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 12889	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 12904	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
61 45 flacon mal fermé	0	1	0	8	—	—	—	+	—	+	cocci
60 12927 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 12918 P	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
60 13015 P flacon suspect	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
61 144	0	0	0	0	+	+	+	+	—	—	bacilles
60 12894	0	0	0	0	—	—	—	—	—		
1557 P	0	0	0	0	—	—	—	—			
3793 P	0	0	0	0	—	—	—	—			
2999 P	0	8	0	I6	—	—	—	—	—	—	bacilles
61 7 flacon suspect	0	0	0	0	—	—	—	—			
1071 P	0	0	0	0	—	—	—	—			

Numéro du flacon	Milieu pour Aerobies				Milieu pour Anaerobies				Moisissures et Levures	GERMES	
	24 h. 9 jours				24h. 6 jours					Gram.	Morphologie
	20°	37°	20°	37°	20°	37°	20°	37°			
61 223 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 219 P	0	0	0	0	–	–	–	–			
61 345 flacon suspect	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 428	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 327	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 326 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 398 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 660 hemolysé	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 548 hemolysé	0	0	0	1	–	–	–	–	–	+	Diplocoques
61 402 P culot	0	0	0	3	–	–	–	–	–	+	Cocci
61 401 P culot	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 387 P culot	0	0	0	2	–	–	–	–	–	+	Cocci
61 392 P culot	0	0	0	3	–	–	–	+	–	–	bacilles
61 1045 flacon mal fermé	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 611 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		

Numéro du flacon	Milieu pour Aerobies				Milieu pour Anaerobies				Moisissures et Levures	GERMES	
	24 h.		8 jours		24 h.		8 jours				
	20°	37°	20°	37°	20°	37°	20°	37°		Gram.	Morphologie
61 594	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 476 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 477	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 499	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 505	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 1275	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 1129 P (shock lors de la transfusion)	0	CE	1	CE	–	–	–	–	–	–	bacilles
61 1418 P	0	0	1	2	–	–	–	–	–	–	bacilles
61 2052	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2071	0										
61 2168 P	0	0	0	2	–	+	–	+	–	+	cocci
61 2105	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2254	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2594	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2171	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2622	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 3190	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2823	0	0	0	0	–	–	–	–	–		

Numéro du flacon	Milieu pour Aerobies				Milieu pour Anaerobies				Moisissures et Levures	GERMES	
	24h.		8 jours		24 h.		8 jours			Gram.	Morphologie
	20°	37°	20°	37°	20°	37°	20°	37°			
61 2722	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2644	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 4234	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2519 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 2520 P	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 22 03	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 22 93	0	0	0	0	–	–	–	–	–		
61 22 60	0	0	0	0	–	–	–	–	–		

CE : Culture envahissante.

Ainsi les méthodes courantes de conservation du sang n'assurent pas une stérilité absolue de la totalité des échantillons délivrés. Aux critères cliniques d'utilisation ne correspondent pas des critères bactériologiques. D'après les résultats ci-dessus, sur les milliers de flacons transfusés chaque jour, un pourcentage assez important comporte quelques éléments microbiens sans qu'il en résulte le moindre accident et même le moindre incident. Comme le fait remarquer M.PITTMAN, ces souillures minimes par quelques unités bactériennes isolées n'entraînent jamais de conséquences cliniques.

Bien différentes de celles trouvées dans nos flacons périmés, les souillures décrites lors d'accident sont massives, constituées par une véritable pullulation microbienne. Elles peuvent parfois modifier l'aspect, la couleur, l'odeur du sang. Et dans les cas, fréquents d'ailleurs, où il n'y a pas de modification de l'apparence, le simple examen d'une goutte de sang montre une prolifération bactérienne. Or, l'examen bactériologique d'une goutte épaisse n'est positif que lorsque le nombre de germes atteint 5 000 à 10 000 par ml.

Comme le pense M. MASSE (33), ces contaminations importantes semblent le fait d'une souillure massive d'emblée, souvent consécutive à une faute de manipulation, à une erreur humaine retrouvée par une enquête ultérieure.

Compte tenu de l'immense capacité de multiplication des bactéries, pour que les souillures infimes que nous avons constatées dans nos sangs périmés ne soient pas à l'origine d'un véritable grouillement il faut que la croissance bactérienne soit inhibée.

Nous savons que lors de contamination d'emblée massive, consécutive à une faille accidentelle et dramatique dans le système de prévention, le pouvoir bactéricide que l'on reconnait au sang est dépassé. Par contre, lors d'une souillure minime, telle qu'en laissent persister les précautions habituelles prises pendant les manipulations obligatoires, ce pouvoir d'arrêt, ce véritable pouvoir antibiotique du sang (car il se comporte bien autrement que comme un mauvais milieu de culture) joue à plein et constitue le véritable support, le garant de ses aptitudes à la conservation et de son inocuité transfusionnelle.

Ainsi, toute la chaîne des mesures prises et sans cesse renforcée, à chaque étape du cycle du sang conservé tend à sauvegarder ce pouvoir et à faire en sorte qu'il ne soit pas dépassé. C'est dans ces limites, compatibles avec ses applications pratiques que nous envisagerons le pouvoir antibiotique du sang.

ETUDE EXPERIMENTALE DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE du SANG TOTAL, du PLASMA, des CULOTS GLOBULAIRES et des GLOBULES LAVEES

APPLICATIONS PRATIQUES EVENTUELLES aux PROBLEMES DE LA CONSERVATION DU SANG.

Historique :

La notion du Pouvoir bactéricide du sang n'est pas récente et les premières observations en sont attribuées à NUTTAL et BUCHNER. Ce fut ce dernier qui en 1889 proposa le nom d'Alexime que conserve BORDET après avoir enrichi le domaine de l'immologie de sa découverte des Sensibilisatrices spécifiques et thermostables.

Cependant,la conception que l'on pouvait avoir au début du siècle de cette notion du pouvoir bactéricide était lourdement hypotéquée par le sens qui était alors attaché au terme de septicémie. Celle-ci était alors définie comme une multiplication des germes au sein même du sang. Aussi le Congrés Français de Médecine de 1927 nous paraît-il une date capitale dans l'historique de ce concept, par la communication magistrale de GASTINEL et REILLY (24) éclairant la pathogénie de "l'Etat septicémique" et établissant ces termes dans leur signification actuelle : un passage répété de germes dans le sang à partir d'un foyer infectieux primitif.

Ainsi peut être reconnue au sang la propriété d'empêcher la croissance bactérienne. Et c'est d'ailleurs sur cette évidence pratique que repose l'un des principes de base de l'Hémoculture : pour obtenir la pousse du germe recherché il faut neutraliser ce pouvoir bactéricide par un procédé quelconque : dillution, séparation des bactéries du sang, addition de produits chimiques ou encore utilisation de milieux solides.

Pendant les années 30, le pouvoir bactéricide du sang fut l'objet de très nombreuses recherches. Citons les travaux de Petterson (41) sur les β lysine, de FIESSINGER et de CATTAN (23) sur "Le pouvoir bactéricide du plasma et du sérum à l'égard du bacille d'HEBERTH", des études de BOEZ (5- 6- 7) sur "L'influence du pH sur le pouvoir bactéricide du sang par bacille typhique", de CARNOT (16) sur "Les modifications apportées au pouvoir bactéricide du sang par le citrate de soude", la thèse de LAVERGNE (36) sur "Le pouvoir bactéricide du sang et les hémocultures".

Depuis la guerre, et à mesure que s'affirmait la place du sang et des dérivés du sang dans la thérapeutique, ces recherches s'orientent dans le sens d'applications possibles aux problèmes de la stérilité des produits sanguins conservés ; parmi de nombreuses publications notons celles de BRAUDE, SPONNER, REISSMAN, GELLER.

Aujourd'hui pour faire le point sur la question du pouvoir antibiotique du sang, nous pouvons nous inspirer de conclusions d'une enquête menée par la "Société Nationale de Transfusion Sanguine" (10). L'opinion générale est que le sang est bactéricide mais les avis sont très partagés quant aux caractères de ce pouvoir, ses variations avec les individus et suivant les germes, sa persistance.

BUT et PRINCIPE DE NOTRE EXPERIMENTATION.

But :

Nous nous proposons dans cette étude d'essayer d'évaluer le pouvoir antibiotique du sang dans ses différentes modalités, son intensité, ses variations pendant le laps de temps considéré.

Pour cela, nous contaminons un flacon par injection d'un nombre connu de germes. Ce sang souillé est réparti stérilement (par transvasement à l'aide de tubulures) en un certain nombre d'échantillons conservés à des températures différentes (37°, 20°, 4°) pour le sang total, à une seule température 4°C, pour les autres produits sanguins. A des intervalles de temps déterminés, nous prélevons un échantillon pour procéder à une numération de germes par culture. De la comparaison des chiffres ainsi trouvés avec le nombre de germes inoculés, nous pouvons déduire les différentes actions du sang sur la croissance bactérienne : les effets bactéricides ou bactériostatiques éventuels.

Principe :

Notre étude étant essentiellement à "visées pratiques", il en résulte un certain nombre de conditions concernant :

l'importance de l'inoculum: nous avons voulu rester dans des limites compatibles avec celles d'une souillure survenant accidentellement dans les conditions normales de conservation (ainsi que nous l'avons envisagé dans notre première partie). Le nombre de germes injectés a donc toujours été inférieur à 300.000 germes par flacon de 500 ml soit jamais plus de 500 germes par ml de sang.

L'importance de la contamination initiale semble être une des raisons de la divergeance des avis sur le pouvoir bac-

téricide du sang. S'il n'est effectif que dans certaines limites, il n'en est pas négligeable pour autant.

Durée de l'incubation : le temps de rotation moyen du flacon du donneur au receveur, est le plus souvent inférieur à une semaine. C'est pourquoi, nous conservons les échantillons 6 jours. Une autre raison du choix de cette durée nous est fournie par les limites du volume de l'unité de sang : un échantillon par jour à chacune des trois températures considérées plus 2 autres pour le contrôle de stérilité et comme flacon témoin à 37°, cela représente 20 prélèvements que nous avons voulus d'un volume d'environ 25 ml, ce qui correspond aux 500 ml du flacon de sang.

CHOIX DU GERME TEST.

Nous avons utilisé un Escherichia Coli O_{126} B_6 isolé de l'hémoculture d'une malade du Laboratoire Central du C.H.R. de GRENOBLE.

Dans notre propre contrôle bactériologique, nous avons relevé un certain nombre de germes gram. négatifs.

Comme nous désirons un germe "représentatif" nous avons été d'autre part guidés dans notre choix par le fait que, lors d'accidents par contamination du sang, les germes responsables sont, dans la quasi totalité des cas, des germes gram. négatifs : E.Coli, Proteus, Friedlander, Pyacyaniques. Ainsi dans sa thèse sur "Les accidents dus à l'injection de sang infecté", Madame LARTIGUE trouve que des bacilles gram. négatifs sont en cause 61 fois, des germes gram. positifs 13 fois. Pour H.BONNEL (33) sur 18 germes identifiés à l'occasion d'accidents, 11 sont des bactéries gram.négatives.

Ces germes sont également mis en cause dans de nombreuses observations (15- 52- 1) à l'occasion d'accidents graves. Cette constatation est importante car elle explique l'aspect clinique particulier (25- 3- 7) des accidents infectieux dus à l'injection de sang contaminé. Ces germes élaborent des Toxines responsables des troubles physio pathologiques observés, avec la triade symptomatique : frissons violebts, douleurs abdominales (et non lombaires comme dans les accidents par incompatibilité) puis collapsus tensionnel. Les toxines des divers bacilles gram négatifs ont des conséquences pathologiques identiques, et comme l'ont montré A.I.BRAUDE, M.H.WEIL et W.W. SPENK, il existe un "Syndrôme dû aux bactéries gram".

Les conditions ainsi définies de notre expérimentation nous obligent à exprimer des réserves. Les résultats obtenus le sont dans des limites strictes, et sont valables

pour des contaminations < 500 germes/ ml de sang ;

pour notre germe test : E. Coli.

I. LE SANG TOTAL

CHOIX DES ECHANTILLONS :

Pour nous placer exactement dans les conditions normales d'utilisation du sang, nous expérimentons sur des sangs frais, dans la demi-heure qui suit le prélèvement effectué au Centre de Transfusion. Pendant le temps de battement, le sang est conservé à l'étuve à 37°.

Ce sang apte à l'utilisation est un produit précieux, aussi nous avons dû, dans ce cas précis, nous limiter à une vingtaine d'expérimentations.

METHODE UTILISEE :

Après avoir prélevé quelques ml pour le contrôle de stérilité et pour le flacon témoin à 37°, une solution en Eau Peptonée d'un nombre connu de germes est immédiatement injectée dans un flacon de 500 ml (400 ml de sang frais + 100 ml de solution anticoagulante A C D ainsi composée : citrate trisodique 2,5g.% , acide monohydrique 0,65g.% , glucose anhydre pur 2,25g.%). Après agitation pour homogénéïsation, son contenu est aseptiquement (par pression) réparti dans 18 flacons de 125 ml à raison de 25ml environ par flacon.

- 6 flacons de 125 ml + 1 flacon témoin (sang non souillé) à 37° ;
- 6 flacons de 125 ml à la chambre frigorifique à + 4° ;
- 6 flacons de 125 ml sont laissés à la température du Laboratoire, (20°) et à l'obscurité.

A 24 heures d'intervalle à partir de l'inoculation, pendant 6 jours, dans un flacon conservé à chacune des températures considérées, 5 ml de sang sont prélevés à la pipette (le reste du flacon étant éliminé) et mis en culture sur milieu M C 55 pour numération des colonies après 24 heures d'étuve à 37°.

MATERIEL ET TECHNIQUE :

Matériel de transvasement :

Pour limiter les causes de souillure, les flacons ne sont ouverts à des fins de prélèvement qu'à la phase finale, et le sang restant éliminé. Autrement, toutes les opérations de répartition sont effectuées par surpression à l'air comprimé stérile, à l'aide de tubulures en matière plastique stériles à double aiguilles, qui servent dans la pratique courante aux prélèvements de petites quantités de sang.

Contrôle de stérilité du sang utilisé :

Sur chaque flacon avant l'inoculation, nous prélevons quelques ml de sang qui sont mis en culture à 37°, pendant 24 heures sur Gelose M C 55.

Numération des germes :

A partir d'une culture de 24 heures en Eau Peptonée, nous effectuons une numération à la cellule compte-germes, puis nous procédons à des dilutions progressives en Eau Peptonée pour obtenir approximativement le nombre de germes voulu sous un faible volume = 1 à 5 ml qui sont injectés à la seringue directement à travers le bouchon du flacon. A partir de la dilution finale en Eau Peptonée, nous mettons un volume déterminé en culture pour une numération plus précise qui est naturellement celle que nous retenons.

RESULTATS :

Dans les tableaux p.25, 26, 27 figurent nos résultats exprimés en % de germes survivants par rapport au nombre primitivement injecté.

Bien que les résultats soient différents, ils nous ont paru assez voisins pour que nous puissions établir une moyenne générale du taux des survivants à chacune des températures considérées, ce qui nous a permis d'établir des courbes de l'évolution du nombre de germes au cours des 6 jours d'incubation. (p. 28 - 29 - 30 - 31.)

1) Résultats en fonction des échantillons :

Pour des inocula d'importance comparable, nous trouvons dans les tableaux 6 et 7, pour chaque sang et aux mêmes températures des taux de survie différents. Mais, ces variations sont faibles et n'existent que dans d'étroites limites, et dans tous les cas considérés sauf un, le nombre de germes survivants représente toujours moins de 10 % du nombre de germes infectants.

Ainsi nous avons trouvé un pouvoir antibiotique pour tous les sangs que nous avons expérimentés. Ce pouvoir antibiotique, encore que variable avec chaque individu est toujours important, provoquant la disparition de + de 90 % du nombre de germes inoculés.

2) Résultats en fonction du temps de contact :

De la considération des variations des moyennes de taux de survie dans le temps, nous pouvons déduire les modalités d'action du pouvoir antibiotique du sang qui se manifeste :

-par un effet bactéricide important, puisque en moyenne, quelle que soit la température considérée, 95 % au moins du nombre de germes inoculés ont disparu après 24 heures de contact.

-puis, les jours suivants, cet effet bactéricide s'émousse, il disparaîtra même souvent complètement à 20°, mais nous constatons une absence de multiplication des bactéries, c'est donc par un effet bactériostatique que se prolonge le pouvoir antibiotique du sang.

L'effet bactéricide semblant se manifester précocement, pour mieux déterminer et situer son mode d'action, nous avons effectué des cultures pour numération de germes, immédiatement après la contamination du sang, puis à des intervalles de temps très courts: (Tableau p.28)

au temps 0 15' 30' 45' 1h. 2h.

Ce que nous avons appelé temps 0, correspond au temps matériellement nécessaire pour réaliser l'injection dans le flacon de la solution contaminante, l'homogénéïsation de celle-ci par agitation, et le prélèvement pour culture, c'est-à-dire 1 ou 2 minutes. Puis le flacon est comme précédemment réparti en échantillons de 25 ml placés à + 4°.

Le tableau 8 résume les résultats des expérimentations sur des sangs frais provenant de donneurs différents avec des inocula comportant de 30 000 à 250 000 germes. Nous constatons ainsi, que dans 5 cas sur 6, immédiatement après leur injection, 85 % des germes ont disparu et qu'après 30 minutes , l'effet bactéricide s'est pratiquement manifesté au maximum.

Donc, le pouvoir antibiotique du sang comporte :

-<u>Un effet bactéricide qui se manifeste presque à son maximum d'emblée</u> ;

-<u>Et son action se prolonge par un effet bactériostatique,</u> les germes survivants ne pouvant se multiplier.

3) Résultats en fonction de la température considérée:

La comparaison des résultats obtenus aux trois températures considérées et objectivées, par les courbes (9 -10- 11- 12) permet de constater que :

-le pouvoir antibiotique est maximum avec l'effet bactéricide d'emblée le plus important à 37°, ce qui paraît assez logique, le sang étant ainsi replacé dans son " climat physiologique d'action".

-à 20°, pendant les premiers jours, les résultats globaux sont intéressants et presque comparables à ceux obtenus à 37° : l'effet bactéricide est très marqué, mais l'effet bactériostatique s'atténue, d'abord lentement puis plus rapidement, devenant parfois nul après 4 jours, ce qui se traduit alors après ce délai, par une croissance rapide et bientôt une véritable pullulation bactérienne.

-à + 4°, l'effet bactéricide, s'il est moins marqué d'emblée semble avoir une action plus durable, le taux de survivance continuant à diminuer régulièrement du premier au sixième jour.

DISCUSSION :

Les résultats obtenus nous amènent à considérer le problème de la réfrigération du sang.

Il est bien connu que le froid n'est pas stérilisant, et que, s'il ralentit nettement la croissance bactérienne, (surtout au-dessous de 10° C) il ne la supprime pas. Et ces dernières années, de nombreux auteurs ont mis l'accent sur le danger que peuvent représenter les produits conservés par le froid dans les domaines des industries pharmaceutiques(comme d'ailleurs dans celui de l'alimentation).

En ce qui concerne ce médicament très particulier qu'est le sang, l'évolution des idées sur ces questions fut accélérée par les fréquentes mises en évidence de germes cryophiles (13- 21- 46- 40) isolés du sang conservé. J.DESBORDES (20)qui après Madame LARTIGUE fait la synthèse des publications parues à ce sujet, constate que beaucoup de germes, en particulier gram négatifs, ont la propriété de croître, de se multiplier à des températures inférieures à 37° C, et qu'en plus certains sont inhibés à 37°.

Les études de JAMES, puis de BOY vont dans le même sens, en recommandant de garder le sang de 8heures à 48 heures à la température ordinaire pour essayer de lui conserver son pouvoir phagocytaire et son pouvoir bactéricide.

Ces idées ont recueilli une certaine audience, et BONNEL, à l'occasion de son enquête sur "Les Problèmes de la Contamination Bactérienne du Sang", constate que la réfrigération n'est plus considérée comme une nécessité impérieuse, et sur 24 Responsables de Centres de Transfusion Sanguine exprimant une opinion, 12 se sont prononcés pour une réfrigération seulement après un délai allant de 4 à + de 12 heures.

D'après nos résultats, ci-dessus énoncés, il ressort :

-que l'effet bactéricide est effectivement diminué à + 4° ;

-que le pouvoir antibiotique est le plus efficace avec l'effet bactéricide le plus important à 37°.

Comme cet effet bactéricide est pratiquement maximum d'emblée, il semble que l'on pourrait proposer le principe d'une courte incubation à 37° avant la réfrigération ; séjour qui serait trop bref pour que les éléments figurés du sang aient le temps d'être lésés, mais suffisant pour que le pouvoir antibiotique ait pu se manifester dans des conditions optima; d'après nos résultats sur la rapidité d'action de l'effet bactéricide, 15 à 30 minutes suffiraient.

TABLEAU n° 6.

Nombre de germes injectés par flacon	Pourcentage de survivants						T° d'incubation
	1er Jour	2ème Jour	3ème Jour	4ème Jour	5ème Jour	6ème Jour	
4 000	2,6	0	0	0	0	0	+ 4°
7 500	1,3	0	0	0	0	0	+ 4°
8 000	11,2 1,2 2,75	10 1,2 2,75	2,50 1,2 1,25	2,50 1,2 0,62	2,50 0 0	2,50 0 0	+ 4° 20° 37°
11 000	1,77	0,88	0,88	0	0	0	+ 4°
13 500	5,88 3,6 1,4	2,94 3,6 1,4	2,94 1,5 1,4	2,20 0,7 1,4	1,47 17,64 1,4	1,47 CE 0,73	+ 4° 20° 37°
14 500	1,3 2,08 2,08	1,3 2,08 0,7	1,3 0,7 0,7	1 0,7 0,7	0,7 2,08 0,35	0 2,08 0	+ 4° 20° 37°
15 000	2	1	0,5	0	0	0	+ 4°
16 500	26,21 7,31 0	25,90 10,97 0	25,60 15,24 0	22,60 16,46 0	19,51 308 0	12,80 326 0	+ 4° 20° 37°
18 000	8,33 0,55 1,66	5 1,1 1,1	3,9 1,4 0,55	2,77 1,6 1,66	2,2 2,2 1,66	1,66 2,77 1,66	+ 4° 20° 37°
19 000	1,60	1,06	0,53	0	0	0	+ 4°
40 000	1,87 0	1,22 0	0,72 0	0,45 0	0,45 0	0,45 0	+ 4° 20°
55 000	1,09 0,54 0,36	0,72 0,36 0,27	1,63 1,18 1,18	2,54 0,18 0,54	2,72 0,18 0,54	6,36 0,72 1,27	+ 4° 20° 37°

(.../)

(Suite)

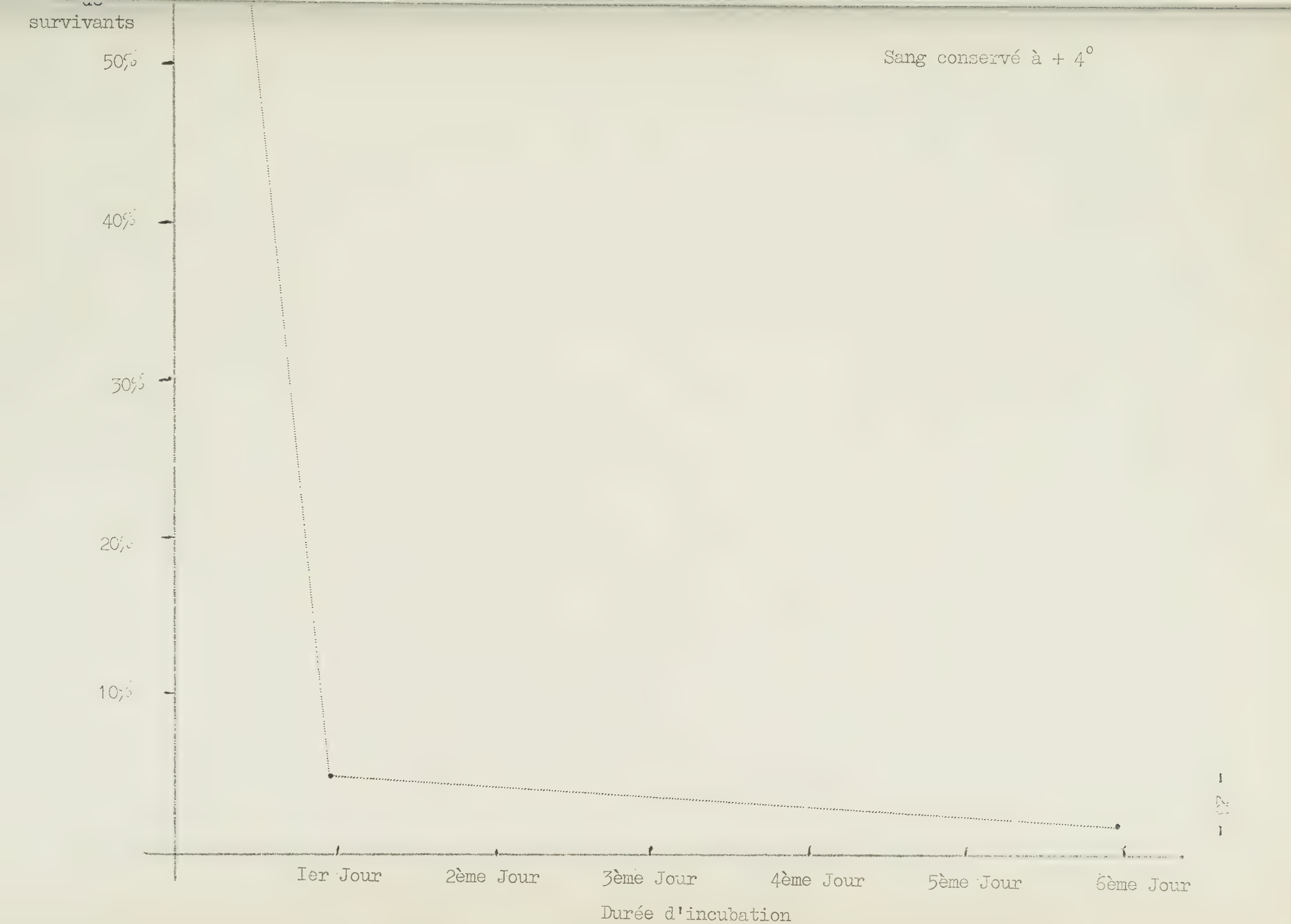
Nombre de germes injectés par flacon	Pourcentage de survivants						T° d'incubation
	1er Jour	2ème Jour	3ème Jour	4ème Jour	5ème Jour	6ème Jour	
150 000	0,13 0	0,13 0	0,13 0	0,13 0	0,6 0	0,6 0	+ 4° 20°
185 000	0,16 0,16 0,05	0,10 0,16 0,05	0,05 0,05 0,05	0,05 0,10 0,10	0 0,10 0,10	0 0,10 0,10	+ 4° 20° 37°
215 000	0,05 2,03	0,05 2,57	0,09 2,39	0,18 2,25	0,8 2,11	0,18 0,65	+ 4° 20°

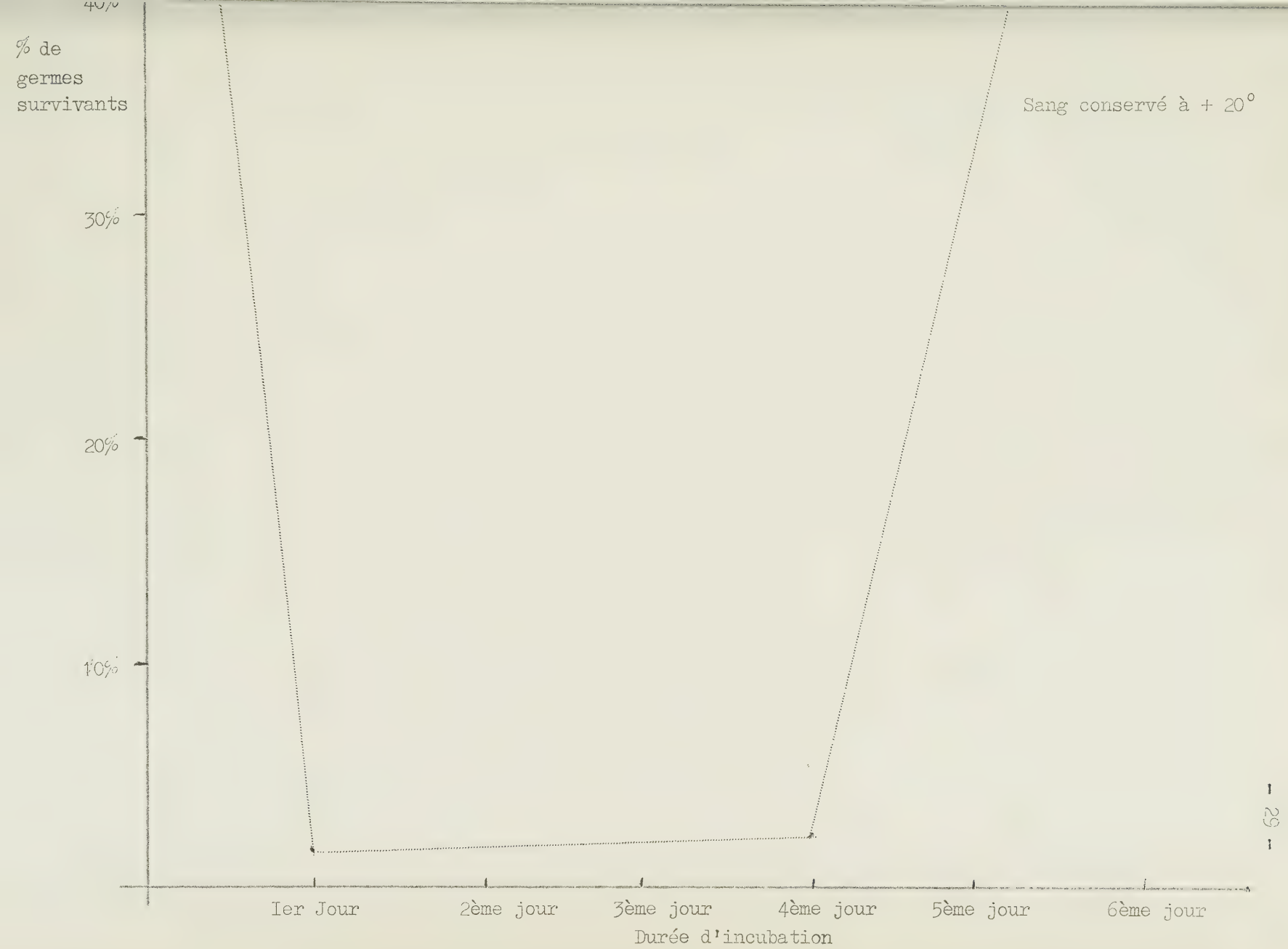
TABLEAU n° 7.

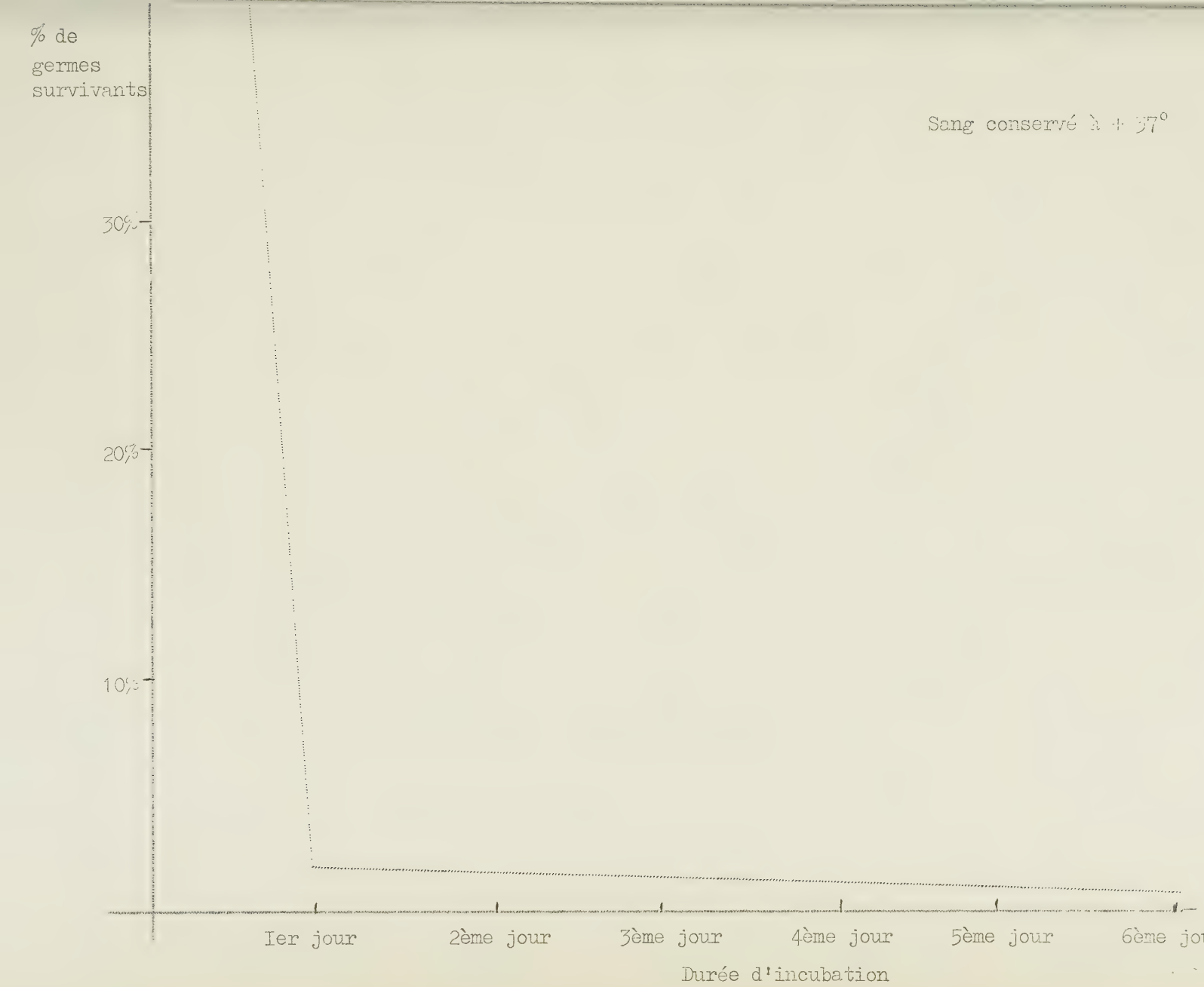
MOYENNE GENERALE DES SURVIVANTS

EN FONCTION DES TEMPERATURES CONSIDEREES

Température d'incubation	Pourcentage de Germes Survivants					
	1er Jour	2ème Jour	3ème Jour	4ème Jour	5ème Jour	6ème Jour
+ 4°	4,16	3,52	2,87	2,42	2,12	1,33
20°	1,55	1,95	2,03	2,04	33,1	cultures incomptables
37°	1,18	0,89	0,80	0,71	0,57	0,53


survivants
50%
40%
30%
20%
10%
Sang conservé à + 4°
Ier Jour
2ème Jour
3ème Jour
4ème Jour
5ème Jour
6ème Jour
Durée d'incubation


40%
% de
germes
survivants
30%
20%
10%
Sang conservé à + 20°
Ier Jour
2ème jour
3ème jour
4ème jour
5ème jour
6ème jour
Durée d'incubation


% de
germes
survivants
Sang conservé à + 37°
30%
20%
10%
Ier jour
2ème jour
3ème jour
4ème jour
5ème jour
6ème jour
Durée d'incubation

40°
% de
germes
survi-
vants.
30°
20°
10°
+ 4°
37°
Ier jour
2ème jour
3ème jour
4ème jour
5ème jour
6ème jour
Durée d'incubation

TABLEAU n°8.

Nombre de Germes injectés par flacon	Durée d'incubation à + 4°					
	Temps 0	15'	30'	45'	1heure	2 heures
32 000	1,89	1,11	0,53	0,53	0,53	0,53
40 000	10,56	2,81	2,81	2,81	1,87	1,87
150 000	5,40	0,80	0,70	0,60	0,50	0,30
215 000	16,9	10	5,4	5,4	5,3	5,2
250 000	3,96	2,7	1,22	0,93	0,8	0,7

II. LE PLASMA

CHOIX DES ECHANTILLONS :

Deux catégories ont été utilisées.

D'une part, pour que les résultats soient comparables à ceux obtenus avec le sang total, du plasma frais séparé de globules après centrifugation, dans la demi-heure qui avait suivi le prélèvement. Cette série sera donc limitée puisqu'elle porte sur des produits utilisables. Elle ne portera que sur les plasmas de 6 Donneurs.

D'autre part, des plasmas provenant de flacons de sangs arrivés à leur date de péremption, ce qui nous a permis de constituer une série plus conséquente : 40 Plasmas ou pools plasmatiques. Mais, alors nous n' étions plus dans les conditions de l'expérimentation du paragraphe précédent, nous nous adressions à des produits sanguins qui avaient séjourné au moins 15 jours à la chambre froide.

METHODE UTILISEE :

Nous injectons à la seringue, à travers le bouchon du flacon soigneusement désinfecté, une suspension d'E.Coli numérée par la méthode précédemment décrite.

-Le nombre de germes inoculés va de 2 000 à 10 000 par flacon de 200 ml environ.

-Les flacons sont ensuite placés dans la chambre froide à + 4°.

-Durée de l'incubation : comme nous avons constaté dans le paragraphe précédent qu'à + 4° l'effet bactéricide persistait pendant le temps d'incubation considéré, nous ne ferons les cultures pour recherche de germes qu'après le sixième jour.

TECHNIQUE :

L'isolement du plasma : réalisé après centrifugation du flacon de sang pendant 20' à 2 000 tours/minute, puis transvasement par pression à l'air comprimé stérile, à l'aide d'une tubulure en plastique à double aiguille.
Nous avons aussi récupéré du plasma sur des culots globulaires, après une seconde centrifugation avec plusieurs petites quantités ainsi recueillies, nous pouvons constituer un pool de 200 à 250 ml.

Flacon témoin : avant la contamination du plasma, 25 ml sont transvasés dans un flacon témoin conservé dans les mêmes conditions.

Recherche des germes : à l'issue de l'incubation, dans le flacon souillé et dans le flacon témoin nous prélevons 5 ml de sang qui sont mis en culture sur Milieu M C 55, 24 heures à 37°.

RESULTATS :

En fonction de la série d'échantillons considérés, nous obtenons les résultats suivants :

-Avec du plasma frais, prélevé et traité exactement dans les mêmes conditions que le sang total dans l'étude précédente, ce qui nous permettra la comparaison des résultats. dans 5 cas sur 6, nos cultures sont négatives.

Le plasma frais isolé immédiatement après le prélèvement du sang, possède donc un effet bactéricide puissant.

- Avec le plasma préparé à partir du sang périmé, nous avons encore des cultures négatives, mais dans une moindre proportion : 18 sur 40. Donc, près de 45 % des plasmas conservés 15 jours au moins à + 4° conservent leur effet bactéricide.

- D'autre part, bien que le problème des supports du pouvoir antibiotique sorte du cadre de ce travail, nous avons voulu voir si notre technique permettait de mettre en évidence parmi les autres facteurs antibactériens incriminés (anticorps, système properdine*, phagocytes viables pour le sang total (38- 50- 43- 26- 48)),le rôle du complément. Nous avons donc divisé un flacon de plasma en 2 quantités égales qui ont été contaminées selon la technique habituelle. Puis les deux échantillons de ce même plasma sont placés 6 jours à + 4°, mais auparavant, l'un des deux est chauffé à 56° pendant 30'. Nous avons réalisé cette manipulation sur un plasma frais et sur 3 pools de plasma préparé à partir de sang périmé, donc ayant au moins 15 jours de conservation à + 4°.

Avec le Plasma frais :

-La culture pratiquée à partir de l'échantillon non chauffé est négative.

-La culture pratiquée à partir de l'échantillon chauffé est positive.

Avec le Plasma conservé : les cultures sont positives dans les deux cas, mais la souillure est beaucoup plus importante pour les échantillons chauffés. Ainsi pour un prélèvement de 5 ml, nous trouvons respectivement :

1 2 10 germes dans le plasma non chauffé ;

36 16 17 germes dans le plasma chauffé.

Ainsi est souligné le rôle du complément, même "vicilli" dans le pouvoir antibiotique du sang.

III. LES GLOBULES

A) Les culots globulaires

CHOIX DES ECHANTILLONS et LEUR PREPARATION :

Nous avons utilisé des culots globulaires tels qu'ils sont après le prélèvement du plasma, pour constituer les pools destinés à la distribution. Ils constituent dans "Les Centres de Transfusion" un produit d'usage aussi important que le sang total ou le plasma. Nous avons pu opérer sur 90 flacons.

Il s'agissait donc toujours de sangs ayant été centrifugés 20' à 2.000 tours avant le prélèvement du plasma. Il restait au-dessus des globules une petite quantité de plasma (la marge de sécurité lors du prélèvement) que nous avons éliminée.

Les échantillons utilisés ont de 2 à 17 jours de conservation à + 4°, en moyenne de 8 à 13 jours. Ce ne sont donc pas des culots frais dans le sens où nous l'entendions dans les paragraphes précédents, mais les résultats obtenus avec des échantillons de 48 heures ou de 2 semaines sont assez voisins pour être pris en considération.

METHODE UTILISEE :

Après avoir transvasé 25 ml de globules dans un flacon de 120 ml qui servira de témoin, nous injectons la suspension d'E.Coli (après avoir exploré la sensibilité de ce nouveau milieu, nous avons limité la contamination à 1 500 à 2 000 germes par flacon), nous agitons pour l'homogénéïsation et le flacon souillé et le flacon témoin sont placés 6 jours à + 4°. Au sixième jour, 5 ml sont prélevés

dans le flacon souillé pour numération des germes par culture sur Milieu M C 55, et la même quantité dans le flacon témoin pour contrôle de stérilité.

RESULTATS :

Pour les 90 échantillons considérés, après 6 jours de contact, les cultures sont toutes positives. Le pourcentage moyen de survivants est de plus de 55 % (pour le sang total, il était de 1,33% à la même température).

Cependant, nous devons relever deux sources d'erreur :

-D'une part, les éléments blancs du sang s'altérant très rapidement (P.CROIZAT, P.NOEL, P.REVOL) (18) étant donné la durée de conservation moyenne de nos échantillons, antérieurement à l'inoculation, le pouvoir antibiotique de ces culots était amputé d'une fraction de son activité.

-D'autre part, le plasma résiduel (une seconde centrifugation permet d'isoler 25 ml de plasma supplémentaire) fausse également cette apréciation. Pour éviter cette dernière cause d'erreur, nous avons procédé à des expérimentations identiques sur des globules lavés.

B) Les globules lavés :

PREPARATION DES ECHANTILLONS

Globules lavés en solution A C D : nous ajoutons à un culot globulaire son volume de solution A C D, nous centrifugeons 20' à 2 000 tours/minute, puis retirons la solution surnageante, la remplaçons par une quantité équivalente d' A C D, centrifugeons encore une fois 20' à 2 000 tours puis éliminons le surnageant.

Globules lavés en eau Physiologique : technique identique.

La METHODE UTILISEE est exactement calquée sur celle des culots globulaires.

RESULTATS :

Pour 21 flacons de globules lavés en A C D, le nombre de germes trouvés par numération par culture après 6 jours de contact à + 4° est dans tous les cas supérieur au nombre de germes inoculés: il représente en moyenne 150% de ce chiffre.

Donc, la croissance bactérienne, si elle est très limitée, est incontestable.

Pour les globules lavés en Eau Physiologique, nous n'avons qu'une courte série de 4 flacons, menée parallèlement à une série de globules lavés en A C D. La croissance bactérienne dans les flacons de globules lavés en Eau Physiologique nous a paru légèrement supérieure (peut-être le pH du Milieu A C D est-il défavorable aux bactéries), ce qui plaide en faveur de l'utilisation de la solution A C D pour la préparation des globules lavés.

De ces données, il ressort : que les globules rouges ne semblent pas posséder de pouvoir bactéricide. C'est la preuve par défaut, du rôle prépondérant du plasma dans l'effet bactéricide du sang total.

C'est dans la pratique transfusionnelle un argument en faveur de la préparation extemporanée des culots globulaires et encore plus des globules lavés.

Ce pourrait aussi, quand un traitement antibiotique est associé à l'indication de transfusion, être une raison supplémentaire pour associer préalablement antibiotique et hématies isogroupes, ce qui aurait le double avantage de faire profiter le malade de l'effet retard de cette association (R.SEIGNEURIN, M.ACHARD, R.MAGNIN) (45) et d'assurer l'inocuité d'une souillure possible.

IV. COMPARAISON DES POUVOIRS ANTIBIOTIQUES DE DIFFERENTS PRODUITS SANGUINS

En une ultime expérimentation qui est la conclusion pratique de ce travail, nous avons voulu confronter les résultats obtenus pour des produits sanguins issus de sangs d'individus différents, déterminer leur valeur relative.

Pour cela, à partir d'un même flacon, nous avons reconstitué la gamme des produits étudiés.

Du flacon de 500 ml, nous avons d'abord retiré 150 ml de sang total, puis après centrifugation, tout le plasma. La moitié du culot globulaire a été transvasée dnas un troisième flacon, et la moitié restante lavée en A C D.

Ces 4 flacons ont été contaminés avec notre germe test et conservé à + 4° pendant 6 jours. Puis nous avons effectué les habituelles cultures pour numération.

Les résultats obtenus confirment les études précédentes.

A volume égal, le pouvoir antibiotique est maximum pour le plasma, puis décroît progressivement pour le sang total, les culots globulaires, les globules lavés.

	P ST CG GL
POUVOIR ANTIBIOTIQUE	

C O N C L U S I O N S

Dans les limites de notre expérimentation, c'est-à-dire pour une contamination égale au plus à 300 000 Germes par flacon (soit 600 Germes par ml, chiffre qui nous semble correspondre aux possibilités maxima de souillure dans les conditions pratiques de conservation) et pour notre germe test (E.Coli) :

1°) Le pouvoir antibiotique du sang complet est toujours important, entraînant la destruction de 90 % des germes inoculés.

2°) Nous avons retrouvé ce pouvoir antibiotique dans tous les échantillons de sang que nous avons étudiés, avec de faibles variations individuelles.

3°) Ce pouvoir est immédiat, l'effet bactéricide se manifestant presque à son maximum d'emblée (pendant le temps matériellement nécessaire à son contrôle : homogénéïsation de l'ensemencement, prélèvement et mise en culture pour numération des germes, c'est-à-dire 1 ou 2 minutes) et son action étant prolongée par un effet bactériostatique, les germes survivants ne se multiplient pas.

4°) Aux trois températures considérées 37°, 20° et 4°C, nous avons constaté :

- Un pouvoir antibiotique maximum avec l'effet bactéricide d'emblée le plus important à 37°;
- Une détérioration d'abord lente puis rapide après le quatrième jour de l'effet bactériostatique à 20°, ce qui se traduit après ce délai, par une croissance rapide et bientôt une véritable pullulation bactérienne ;

- Un effet bactéricide relativement plus soutenu dans le temps à 4° (compte tenu des effets défavorables du froid sur la croissance du germe test).

Ces constatations pourraient amener à discuter le principe d'une brève incubation à 37° (les éléments figurés du sang n'auraient ainsi pas eu le temps d'être lésés avant la conservation du sang en armoire frigorifique à + 4°.

5°) De l'expérimentation sur le plasma et globules séparés, nous retiendrons que pour le sang conservé à + 4° :

- Le plasma semble responsable de l'effet bactéricide (signalons la participation à cet effet du "complément vieilli" après plusieurs jours de conservation à + 4°;

- Les globules ne semblent pas posséder un pouvoir bactéricide (l'inoculation des globules lavés est suivie d'une croissance bactérienne très limitée mais réelle). Ce qui plaide en faveur de la préparation strictement extemporanée des culots globulaires et globules lavés destinés à la transfusion.

Le Président de la Thèse

R. CROIZAT

Vu,
Le Doyen

H. HERMANN.

Vu et permis d'imprimer
LYON, le 13 Janvier 1962

Le Recteur
Président du Conseil de l'Université

P. LOUIS.

B I B L I O G R A P H I E

1) ANDRE R., GERMAIN A., POLACCO E.

A propos d'un accident de transfusion dû à la contamination massive du sang infecté par un bacille gram négatif.

Transf. 1959. T II. n°4. p 347.

2) ANDRE R., GERMAIN A, POLACCO E.

A propos d'un accident de transfusion dû à la contamination massive du sang infecté par un bacille gram négatif.

Transf. 1959. T II. n°4. p 350.

3) ANDRE R. et REVIRON J.

Incidents et accidents dus au sang et aux dérivés du sang.

Revue du Praticien. 1961. T XI. n°22. p 22-25.

4) BEUTLER E.

1955. JAMS. Ass.159, 989.

5) BOEZ.

Influence du PH sur le pouvoir bactéricide du sang pour le bacille typhique.

1930. CRSB 104. p 40.

6) BOEZ et MARNEFFE

Influence de la concentration saline du sang (NACL) sur le pouvoir bactéricide du sang. Application aux hémocultures.

1931. CRSB 106. P 352-360.

7) BOEZ et ROBIN.

Influence du PH sur le pouvoir bactéricide du sang. Hémoculture en citrate acide sur la destruction du pouvoir bactéricide du sang. Application à l'hémoculture.

1929, CRSB 106. p 352.

8) BONNEL H.

Comment se pose en France le problème de la contamination bactérienne du sang et des produits dérivés. Résultats d'une enquête.

Transf. T II n°4. p 296.

9) Transf. T II n°4. p 290. 1959.

10) Transf. T II n°4. p 299. 1959.

11) Transf. T II n°4. p 300. 1959.

12) BORDEN C.U. et HALL W.H.

Fatal transfusion reactions from massive bacteril contamination of blood.

New Engl. Med. 1951. 245,760.

13) BRAUDE H.I., CAREY, SIEMENSKIJ.

Studies of bacterial transfusion reactions foom refrigerated blood. The properties of cold growing bacteries.

J.Clin. Invest. 1955. 34, 311, 326.

14) BRAUDE A., SANDFORD, BARTLETT, MAILERY.

Effects and clinical significance of bacterial contaminants in transfused blood.

15) BRAUDE A., WILLIAMS D., SIEMENSKI et MURPHY B.

Shock like state due to transfusion of blood contaminated with gram negative bacteria.

AMA. Arch. Med. 1953. 92,75.

16) CARNOT P. et LAVERGNE H.

Sur les modifications apportées au pouvoir bactéricide du sang par le citrate de soude.

1936. CRSB 122. p 1249.

17) COFFRE H.

Accidentes mortales consecutivos à la transfusion du plasma.

Rev. Méd. CIRHE 72, 542. 1944.

18) CROIZAT P., NOEL P. REVOL P.

Hematologie clinique.

1951. T I. p 282.

19) Colloque sur la contamination bactérienne du sang et des produits biologiques d'origine.

Sous la présidence de M.MASSE. Séance du 26.11.1959 de la Société Nationale de Transfusion Sanguine.

Transf. T II. n°4. p 283.

20) DESBORDES J.

A propos des techniques de contrôle de la stérilité des produits biologiques d'origine sanguine.

Transf. 1959. T II. n° 4. p 314.

21) EDSALL G., WETTER LOW L.A.

Missed contamination in biologic products the role of cryophile bacteria.

J. Bact. 1941.p 54.

22) ENTERGART.

Lancet 1956. 271, 69, 49, 809.

23) FIESSINGER et CAILLANT.

Pouvoir bactericide du serum et du plasma à l'égard du bacille d'Eberth.

1922. Press. Med.

24) GASTINEL P. et REILLY S.

Sémiologie générale de l'état septicémique.

PARIS 1927. Congrés français de Médecine. p 1 à 107.

25) GELLER P. et JAWETZE.

Experimental studies of bacterial contamination of Bank blood I, the nature of the toxicity of contaminated blood.

J. Lab. and Clin. Med. 1954. p.43, 696.

26) HIRSH JC.

Biochemicol (studies on the bactericidal power of phagocyte.

Ann. NY. Acad. Sc. 1959. T 66. p 382-385.

27) Inquest on fwe persons who dead after blood transfusion.

S A F med.p 30, 305. 1956.

28) JEANNENEY et RIWGENBACH.

Traité de la transfusion. 1956.

29) LARTIGUE H.

Thèse à la contribution de l'étude des accidents dus à l'injection de sang infecté.

BORDEAUX 1957. n°122.

30) LAVERGNE H.

Thèse:Pouvoir bactéricide du sang et hémoculture.

PARIS 1939. n° 460.

31) MASSEL L., BENTEGEAT et MASSE C.

A propos des accidents dus à la transfusion du sang infecté.

Mémoire de l'Académie de Chirurgie. 1959. T 25. n° 13. p 372, 329.

32) MASSE L., BENTEGEAT, MASSE C. et FALLOT E.
Quelques aspects de la prévention du risque bactériologique dans un Centre de Transfusion.
TTansf. T II. n°4. p 339.

33) Transf. T II. n°4. p 341.

34) Medico legal Annotation : Death from toxemie after blood transfusion.
Brit. Med. J. 1952. p 1036.

35) Medico legal role:Death after transfusion of infected blood.
Brit. Med. J. 1954. p 934.

36) MATTHES.
Au sujet de la contamination bactérienne du sang conservé.
Vème Congrés de transfusion sanguine.
PARIS 1954. Imp.CROUTZET. Edit. PARIS Sept.1955. p.567,571.

37) MOLLISSON P.L.
Blood transfusion in clinical medecine.
Springfield III. 1951. Charles THOMAS édit. p.321.

38) PILLEMER L, WARDLAW A.
The properdina SYS tem and immunity the bactericial activity of the properdine.
J.Exp. Med. 1956. p 103, 553.

39) PITTMAN M.
A study of bacteria implicated in transfusion reactions and of bacteria isolated from blood products.
Soc.Biol.Clin. Med. 1953. p 42, 273.

40) PITTMAN M.

Psychrophilic and other bacterial contamination from human blood and blood products.

Ann. Blood.BANK. 1952.

41) PETTERSON A.Z.

Notes sur Blysines

1927 Immunitate farch . p 54 et 292.

1934 Seitsch f. Immun. farsch 82. p 165, 83. p 335.

1946 Revue d'Immunologie. n°3. p 288.

42) REISSMANN

Rev Untersudumuyen feber das bochterien wochstum und seine verhütung un Karsevieitan blut.

Bact. 1945.p 50. 387.

43) ROWLEY D.

Some factors affecting the resistance of animals to bacterial infections.

Ann. NY. Acad. 1956. T 6. p 304, 311.

44) ROY, DROSPY G. et LAURAIN S.

Etude clinique et biologique d'accidents dus à la contamination du sang conservé.

Transf. T I. n°4. p 317.

45) SEIGNEURIN R., ACHARD M.L. et MAGNIN R.

Fixation et transport des antibiotiques par les hematies.

Annales de l'Institut Pasteur. J.1955. T 89. p 71.

46) STEVENS ARY., LEGG JC., HENRY BS., DIKE, KIRBY et FINCH.

Fatal transfusion reactions from contamination of stoned blood by cold growing bacteria.

Annales médicales 1953. p 6, 12, 29.

47) STEVENS ARY., LEGG JC., HENRY BS.,DIKE, KIRBY et FINCH.
Fatal transfusion reactions from contamination of stoned blood by cold growing bacteria.
Annales médicales 1953. p 39.

48) TULLIS SL. and SURGENU DM.
Phagocytesis promoting factor of plasma and serum.
Ann. NY. Acad. SC 1956. p 661, 386, 390.

49) TZANCK.
Traité de transfusion.

50) Vie Médicale (PARIS) : les antibiotiques internes.
1958. 7 39. n° sp. p 39,40.

51) WHITBY L.
Blood transfusion.
Bristol. p 467. Wrytit Bristol 1949.

52) WISE R., SHAFFER JM. and SPINK.
Wn the syndrom of vascular collapse due to gram negative bacteria its management with Norepinephrine and Antibiotics.
J. Lab. and Clin. Médic. 1952. p 961.

TABLE des MATIERES

AVANT-PROPOS ..... page 1

LA CONTAMINATION BACTERIENNE et le CONTROLE BACTERIOLOGIQUE DU SANG CONSERVE ..... " 3

- Matériel et Technique ..... " 5
- Résultats et discussion ..... " 6

ETUDE EXPERIMENTALE DU POUVOIR ANTIBIOTIQUE du SANG TOTAL, du PLASMA, des CULOTS GLANDULAIRES et des GLOBULES BLANCS .....

- Applications pratiques éventuelles aux problèmes de la conservation du sang ..... " 14
- But et principe de notre expérimentation ..... " 16
- Choix du germe test ..... " 17

I - LE SANG TOTAL ..... " 19

II - LE PLASMA ..... " 33

III - LES GLOBULES ..... " 36

IV - COMPARAISON DES POUVOIRS ANTIBIOTIQUES DE DIFFERENTS PRODUITS SANGUINS ..... " 40

CONCLUSIONS ..... " 41

BIBLIOGRAPHIE ..... " 43